

## セッション 1. 心臓安全性評価にかかわる ICH ガイドラインを取り巻く最新情報

座長 佐藤 薫  
石田 誠一

### ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価法の現状と今後の展望

諫田 泰成 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

ヒト iPS 細胞は、今まで入手が困難であったヒト細胞のソースとして注目されている。創薬において、創薬プロセスの早い段階でヒトにおける医薬品候補化合物の安全性や有効性を評価できれば、研究開発コストの削減、被験者の安全性確保、臨床試験の削減などの実現が期待される。

医薬品による有害反応の中で、催不整脈作用のリスク評価は極めて重要である。ICH S7B ガイドラインの hERG 試験では K<sup>+</sup> チャンネル (IKr) 阻害による QT 延長を一定の精度で予測できるが、催不整脈リスクの評価には不十分であると考えられる。ヒト iPS 細胞由来の分化心筋細胞は K<sup>+</sup> チャンネルに加えて Na<sup>+</sup> チャンネルや Ca<sup>2+</sup> チャンネルなどの他のイオンチャンネルを発現していることからマルチチャンネルに対する薬理作用を総合的に評価することができるため、催不整脈リスクの予測性が高まると考えられる。

しかしながら、分化心筋細胞を用いた試験法の確立に向けては問題も少なくない。ヒト未分化 iPS 細胞は標準化が検証された結果、株間、継代数、ラボ間などによって性質が異なることが明らかになっている。分化心筋細胞は国内外の複数の会社から販売されているが、規格化の作業が手付かずであり、分化誘導の標準プロトコールや分化心筋細胞の標準的な機能評価法など確立されていない。さらには、研究者間で薬理試験法も異なっていたために実験データの比較検討ができず、分化心筋細胞を用いた薬理試験の再現性、信頼性を評価することが難しい。

そこで本シンポジウムでは、ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた安全性評価に関して現状を共有し、将来的なガイドライン化も見据えて整備すべき課題について議論したい。



2014-2-13 公開シンポジウム(東大・弥生講堂)



## ヒト iPS 細胞由来心筋細胞を用いた 安全性評価法の現状と今後の展望

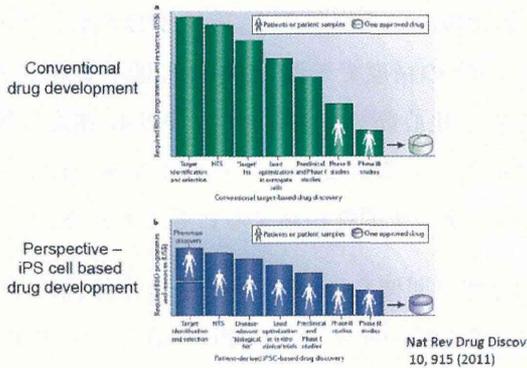
国立医薬品食品衛生研究所  
薬理部第二室  
諫田 泰成

本発表の見解は発表者の私見であって、国立医薬品食品衛生研究所  
および厚生労働省の公式な見解ではありません。

## 本日のお話

- ▶ 創薬プロセスにおけるヒトiPS細胞の応用
  - 海外の動向
- ▶ ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた安全性薬理試験法の開発
  - 標準化の意義
  - 試験法としての科学的根拠(バリデーション)
- ▶ ガイドライン化に向けた展望

## 創薬プロセスにおけるヒトiPS細胞の応用



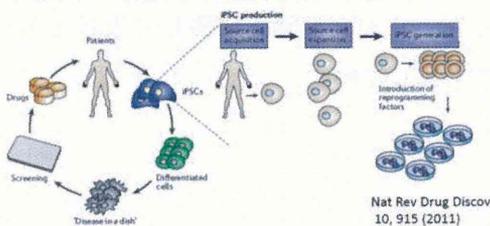
## ヒトiPS細胞の創薬応用の展望

- ✓ 新しい創薬ターゲットの探索
- ✓ 種差の壁を乗り越えた非臨床試験法の開発
- ✓ 非臨床段階でのヒト有効性/安全性評価の実現



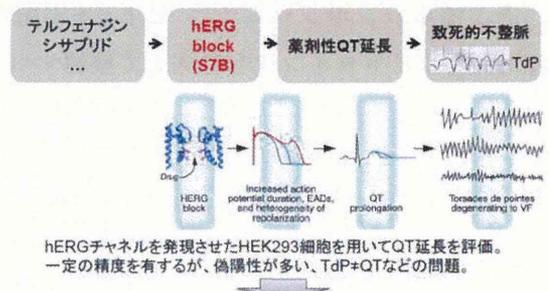
創薬プロセスの“パラダイムシフト”

## 新たなパラダイムを実現するためには



- ・ 薬理試験に用いる健康人および疾患iPS細胞由来の分化細胞の大量かつ安定な供給システムを確立する。
- ・ 個体差と疾患の区別を明確にする。
- ・ 再現性が可能なシステムを構築する。
- ・ 分化細胞を利用した評価が妥当であることを科学的に証明する。

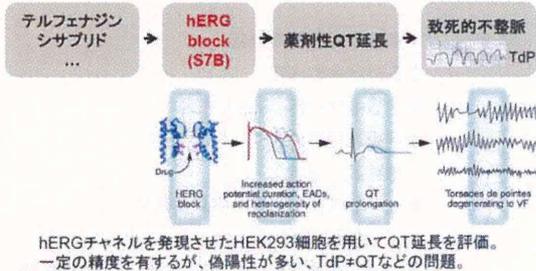
## hERG試験 (S7B ガイドライン)



hERGチャネルを発現させたHEK293細胞を用いてQT延長を評価。一定の精度を有するが、偽陽性が多い、TdP≠QTなどの問題。

ヒト分化心筋細胞はマルチチャネルを発現しているため  
総合的に催不整脈作用を予測できる可能性！

## hERG試験 (S7B ガイドライン)



ヒト分化心筋細胞はマルチチャネルを発現しているため  
総合的に催不整脈作用を予測できる可能性！

## Comprehensive *in vitro* proarrhythmia assay (CIPA)

### Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium

Philip T. Sager, MD, FACC, FAHA,\* Gary Gintant, PhD,\* J. Rick Turner, PhD,\* Cyril Petit, MEM,\* and Norman Stockbridge, MD, PhD\* *Pharmacol. Clin. Ther.* 2014; 97: 1-12

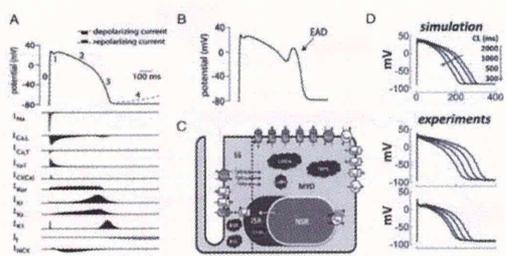
Am Heart J 12:565 (2014)

#### Goal:

Develop a new paradigm for cardiac safety evaluation of new drugs that utilizes high throughput methods and provides a more comprehensive assessment of direct proarrhythmic potential by:

- ✓ evaluating effects on multiple cardiac ionic currents beyond hERG
- ✓ provide a more accurate assessment of potential effects on human cardiac electrophysiology
- ✓ focus on TdP proarrhythmia rather than QT prolongation

## CIPA のWork Stream



Am Heart J 12:565 (2014)

イオンチャネル、心筋、インシリコ、規制などの各チームにおける議論をもとに、催不整脈作用の統合的理解を目指す。

## CIPA のWork Stream

**In Silico** – model design, execution, feedback and vetting; Tom Colatsky (Thomas.Colatsky@fda.hhs.gov)

**Ion Channel** – channel selection, protocol development, novel data generation to test model; Cyril Petit (Spettit@hesiglobal.org)

**Stem Cell Myocyte** – protocols, platforms and validation; Gary Gintant (Gary.Gintant@abbvie.com)

**Regulatory** – model design and validation compound selection, arrhythmia metrics, ECG assessment; Philip Sager (Psager@Stanford.edu)

**Steering Team** – Coordination and integration

**CIPA Administrator:**

Jennifer Pierson: jpierson@hesiglobal.org

FDA Lead: Norman Stockbridge: Norman.Stockbridge@fda.hhs.gov

## ヒトIPS細胞由来心筋細胞の問題

1. 分化細胞毎の多様性が大きい
  - 元となるヒトIPS細胞株の違い
  - 分化誘導法による違い
  - 分化細胞は高度な精製が困難 (例: 心室筋)
2. 分化細胞の性質は培養環境に依存する
  - 分化誘導後の培養条件の違い (例: 培地、基材、培養期間)
  - 基本的な培養技術が一般的な細胞株とは異なる (例: 輸送・有効期間)
  - 培養により均一性が低下する可能性がある (例: 長期培養)
  - 分化の状態が変わる可能性がある (例: 長期培養)

分化心筋細胞は**絶えず変化しうる細胞集団**である！

- ✓ 分化細胞の特性解析が重要。
- ✓ 従来の培養細胞製品とは異なる品質管理が必要

## 実験手法の“標準化”の重要性

➢ 分化心筋細胞を使った薬理試験結果の再現性、バリエーションを把握できる

➢ 実験結果の信頼性を評価できる

- 多施設で同じ薬物に対して同じ結果が得られることを検証

## ヒトiPS細胞由来心筋細胞

### ◆現在利用可能な市販心筋細胞

- iCell Cardiomyote (Cellular Dynamics International)
- ReproCardio (Reprocell)
- Cytiva Cardiomyocytes (hES cell-derived; GE Healthcare)
- hES-CMC (Collectis)
- Cor.4U CL cardiomyocytes (Axiogenesis)

### ◆実験標本のタイプ

- Single cell
- Sheet
- Cluster

## 実験プロトコルの標準化

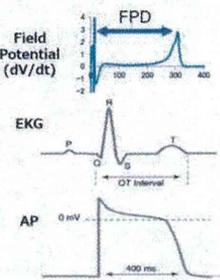
- <手順>
1. 参加研究機関の選定
  2. 実験標本の決定
  3. 実験方法・計測方法の決定
  4. 評価指標の決定
  5. 被験薬の決定
  6. 同一研究機関内での実験再現性
  7. データ解析法の統一化
  8. 各参加研究機関におけるバリデーションの実施
  9. プロトコルの修正
  10. 標準プロトコルの確立

## 心筋細胞の機能評価法

多点電極による細胞外電位記録



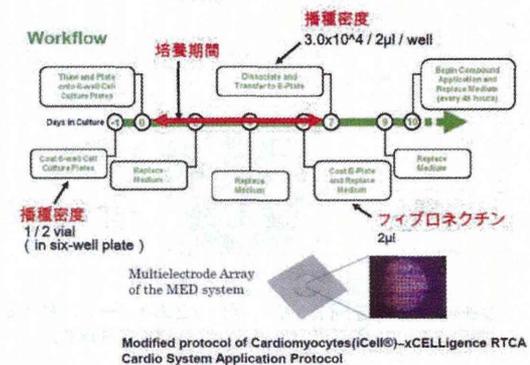
MED64 system  
(Alpha MED Scientific Inc.)



(Kamp & January, Drug Discovery Today 1:45, 2004)

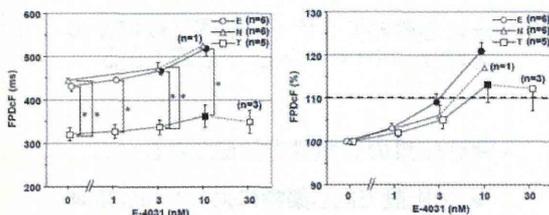
## 共通プロトコル

Workflow



Modified protocol of Cardiomyocytes (Cell8)-xCELLIGENCE RTCA Cardio System Application Protocol

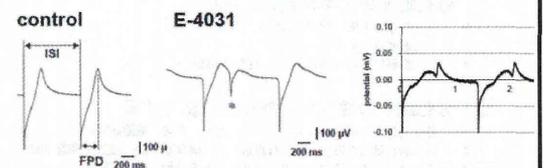
## 多施設間における E-4031によるFPD延長の検証



iCell心筋(#1089404)をモデルとして、産官学でバリデーションを行った。

E: エーザイ  
N: 国立衛研  
T: 東邦大学  
Nakamura Y., et al.  
J Pharmacol Sci (in press)

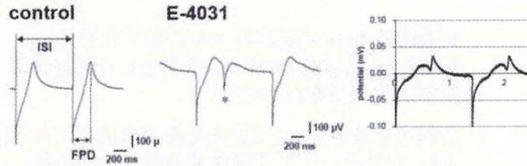
## E-4031によるEAD/TA様波形の発生



Concentration (nM)	Facility			
	E	N	T	All
0	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/5)	0% (0/17)
1	0% (0/6)	NT	0% (0/5)	0% (0/11)
3	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/5)	0% (0/17)
10	0% (0/6)	83% (5/6)	0% (0/5)	29% (5/17)
30	100% (6/6)	100% (6/6)	40% (2/5)	82% (14/17)
100	100% (6/6)	100% (6/6)	100% (5/5)	100% (17/17)

NT: Not tested  
Nakamura Y., et al. J Pharmacol Sci (in press)

### E-4031によるEAD/TA様波形の発生



Concentration (nM)	Facility				All
	E	N	T	All	
0	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/5)	0%	0% (0/17)
1	0% (0/6)	NT	0% (0/5)	0%	0% (0/11)
2	0% (0/6)	0% (0/6)	0% (0/5)	0%	0% (0/17)

分化心筋細胞、標本タイプ、実験プロトコル等を揃える事により、FPD延長やEAD/TA発生率に関して一定の評価が可能！

Nakamura Y., et al. J Pharmacol Sci (in press)

### 実験データの再現性に関わる要因

#### 分化心筋細胞

- ロット差
- メーカーの差
- 培養日数 (測定するタイミングなど)
- 培地
- 実験環境 (CO<sub>2</sub>など)
- 播種密度
- etc

#### 機能評価法

- FPDの解析方法
- EAD/TA様波形の判定基準
- チャネル間の差
- etc

2014年(平成26年)1月28日 火曜日 日刊薬業 第13881号



### iPS活用 心毒性安全評価法を開発へ

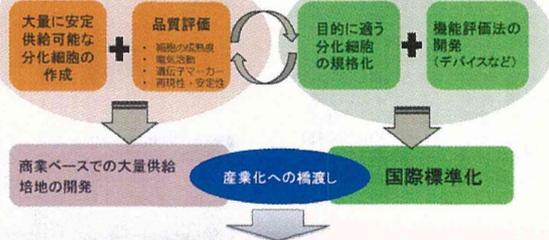
厚生省 製薬協との検証実験も計画

厚生労働省は、iPS細胞技術を活用した心毒性に関する医薬品の安全性評価法の検討に乗り出す。人体へのリスクの大きい臨床試験の廃止を求める世界的な動きが出ている中で、iPS細胞技術を用いた心筋細胞の開発と、それを活用した精度の高い評価法開発を並行して進める。日本製薬工業協会と共同で大規模な検証実験も行う計画で、日本発の心筋細胞と評価法を、世界基準として確立させるための取り組みを加速させる。

### ヒトiPS細胞を用いた安全性評価に向けて

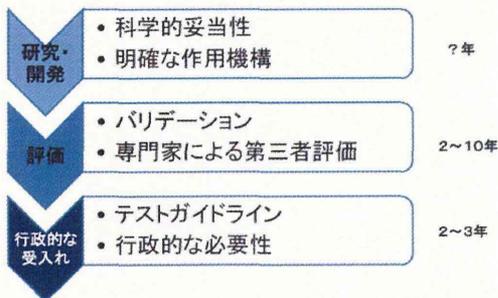
#### 分化細胞作成技術の開発

#### 細胞を用いた機能評価法の開発



ヒトにおける薬効・安全性をin vitroで評価できるか？

### 試験法の行政的な受入れまでの経緯



### ガイドラインを見据えて

- ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた薬理試験法のデータを取得する。特に、hERG試験との比較が重要である。
- CIPAのWork Streamに参加して、iPS心筋を含めた心毒性の総合的評価に関する情報収集や意見交換を行う。

## ガイドラインを見据えて

- ヒトiPS細胞由来心筋細胞を用いた薬理試験法のデータを取得する。特に、hERG試験との比較が重要である。
- CIPAのWork Streamに参加して、iPS心筋を含めた心毒性の総合的評価に関する情報収集や意見交換を行う。



ICHにおいてガイドライン改定の動きが出るのが考えられ、少なくとも我々は速やかに対応できるよう準備しておく必要がある。

## まとめ

- iPS細胞を利用するプロトコルの標準化を行い、誰でもできる実験プロトコルを普及して試験法の科学的妥当性を検討する。
- 薬剤の応答性をもとに分化心筋細胞の規格を設定し、試験データの再現性や信頼性を高める。
- 国際標準として認められるためにバリデーション研究を推進すべきである。
- 国際協調を図り、ガイドライン化を見据えた動きに対応する。

## 謝辞

関野 祐子 (国立衛研)  
杉山 篤 (東邦大学)  
安東 賢太郎 (東邦大学)  
中村 裕二 (東邦大学)  
松尾 純子 (新日本科学 / 東邦大学)  
澤田 光平 (エーザイ株式会社)  
宮本 憲優 (エーザイ株式会社)  
小島 敦子 (エーザイ株式会社)  
長田 智治 (三菱化学メディエンス)  
第1回霧島会議にご参加の皆様  
(敬称略)

研究費



## セッション 1. 心臓安全性評価にかかわる ICH ガイドラインを取り巻く最新情報

座長 佐藤 薫  
石田 誠一

### 医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題

古谷 和春 大阪大学 大学院医学系研究科 分子・細胞薬理学

心臓研究者は、不完全であるとはいえ、様々なコンテキストで得られたデータを統合し、不整脈といった心臓の電気現象を理解しようと試み続けてきた。心臓の構造と機能は、様々な階層で分けられ、再現性と定量化に優れた実験アプローチやシステム生物学的アプローチによって、個々の相互関係が明らかとされてきている。このようなアカデミアでの基礎研究は、心臓病の医療や創薬の方法を革新的に発展させる応用に繋がると期待されている。

現在、医薬品の心臓安全性評価に関わる ICH ガイドラインの見直しが進められている。新たなガイドラインは、現行のガイドラインが制定された 2005 年当時とは異なる現在の学術・科学技術レベルを反映したものとなるはずである。新たなガイドライン制定に向けて、近年開発されたヒト iPS 細胞を用いた医薬品の有効性や安全性の検査の実現可能性が検討されている。それと同時に、高騰する医薬品開発費、種差などに起因する非臨床試験(動物実験)と臨床試験でのデータの不一致や低い外挿性を背景として、コンピュータシミュレーション、すなわちインシリコのアプローチを医薬品の心臓安全性評価に用いていこうという動きがある。

本講演では、インシリコにおける医薬品催不整脈リスク評価の実現性に関して議論するために、現在の心臓機能シミュレーション技術の現状と課題について紹介する。この分野の世界的な動向を概説し、さらに我々が行っている研究プロジェクトで得られた成果を紹介する。薬物の催不整脈リスク評価の一つとして、hERG チャンネル阻害作用が検査されているが、阻害作用のみならず、その他の作用も統合して、インシリコで解析できることを示す。また、医薬品開発におけるインシリコによる新規試験法の位置付けや実現に向けた今後の課題に関して、研究教育機関としてのアカデミアの立場から考察する予定である。

医薬品安全性のインシリコ試験は、得られた実験データの意味を従来にない明快さで説明することを可能にするものであり、非臨床試験や臨床試験に取って代わるものではない。同時に検討されているヒト iPS 細胞の創薬プロセスへの応用などと併せて考えれば、医薬品のヒトへの安全性評価法のブレークスルーとなるであろう。

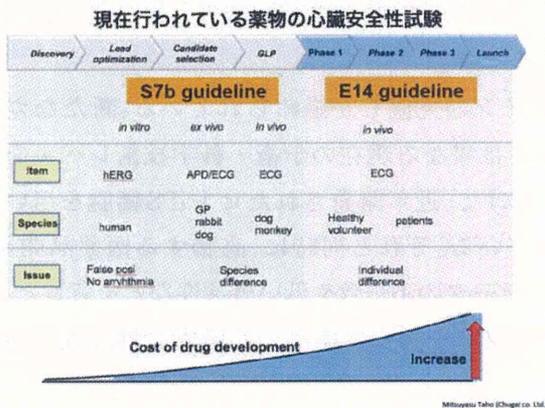
ヒトiPS細胞の創薬プロセスへの応用  
 ~国際情勢を見据えた新規試験法開発を目指して~

心臓安全性評価にかかわるICHガイドラインを取り巻く最新情報

## 医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における 現状と課題

古谷和春

大阪大学大学院医学系研究科



薬物（ヒト用医薬品、非抗不整脈薬）の心臓安全性  
 一還元主義的な生命科学隆盛の時代の成果一

- ~1990年代  
薬物治療による致死的不整脈の発生、医薬品の市場からの撤退
  - 1990年ごろ  
 $k_{01}$ と $k_{03}$ の心臓電気生理学的・薬理学的な単離、薬物 $k_{01}$ の阻害
  - 1995年ごろ  
hERG遺伝子が $k_{01}$ 成分のイオンチャネル $\alpha$ サブユニットをコードするLQT症候群の分子機構
  - 1995年ごろ~2000年代  
薬物によるhERG/ $k_{01}$ チャネルの阻害  $\Rightarrow$  活動電位持続時間延長  $\Rightarrow$  TdPの発生という薬物誘発性致死的不整脈発生の概念  
 $\Rightarrow$  薬物の心臓安全性の評価の学術的背景
- しかしこの分子レベルから上方への因果関係は必ずしも正確ではない

薬物誘発性不整脈研究の進歩①  
 不整脈の発生に関わる知識の蓄積

**in vivoの不整脈研究**  
 臨床：薬物誘発性不整脈の臨床データの蓄積、解析  
 非臨床：より良い動物モデル  
 ヒトでは取得不可能なデータの取得

**in vitroの不整脈研究**  
 分子：薬物の心臓イオンチャネル・トランスポーターへの作用  
 （時としてマルチ作用）が詳細に解析された  
 細胞・組織：心組織における興奮伝導の計測、解析

不整脈（Torsadogenic）のメカニズムの統合的な理解が着実に進んでいる

薬物誘発性不整脈研究の進歩②  
 心臓安全性評価への応用が期待される新しいテクノロジー

**計測技術、バイオデバイスの進歩**  
 多点電極システム：心筋シートからの細胞外電位の測定  
 画像解析技術：細胞内シグナル伝達やQT延長、伝導性、収縮性などを評価  
 これまでに得られなかった質のデータが得られ知識の多角化が期待される

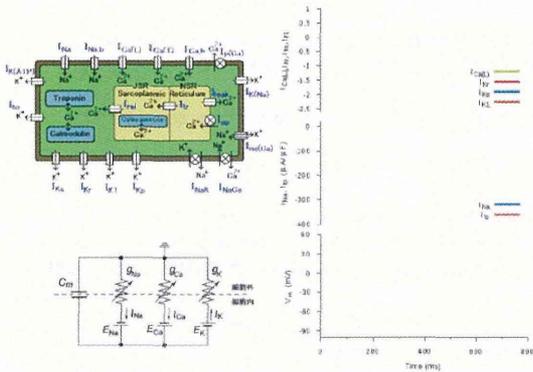
**iPS細胞に代表されるようなバイオテクノロジーの進歩**  
 ヒト由来細胞からデータが取得出来るようになる

ヒトiPS細胞由来分化細胞（心筋細胞）の実用には、未だ再現性や信頼性に課題が残る。しかしそれを克服して、『iPS細胞を薬物安全性評価（不整脈の予測）など創薬プロセスに用いたい』

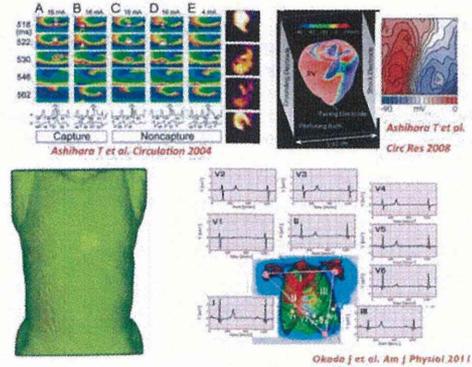
薬物誘発性不整脈研究の進歩③  
 心臓機能シミュレーション

- '90-2000年代からの変化
- 1.心臓機能解析・統合的不整脈研究プロジェクトの設立  
学際的な発展
  - 2.国際学会と成果発表  
ICSBほか多数、論文の増加
  - 3.ハード面（コンピューター性能）の向上  
以前：ハード性能の未成熟のため計算の大規模化が困難であり、モデルは極端な抽象化されていたため、実験的に得られるin vitro、in vivoデータの統合が困難  
薬物（分子レベル）と心電図（個体レベル）の関係などの解析的評価が困難  
 $\Rightarrow$  大規模複雑なモデル（例えば多階層モデル）の計算が現実的に
  - 4.ソフト面（生体システム理論・解析アルゴリズム）の向上  
現象をどのように数理モデル化し計算するのかわか  
ロバストネス、ネットワーク進化、システム遷移
  - 5.システムズバイオロジーの基盤技術  
測定技術  
統一プラットフォーム（研究環境の標準化）、各種解析ツール、モデルデータベース

薬物誘発性不整脈研究の進歩③  
心臓機能シミュレーション



薬物誘発性不整脈研究の進歩③  
心臓機能シミュレーション



コンピューターシミュレーションの強み

実験データのヒト催不整脈性への橋渡し

急性、慢性、Multiple Ion Channel Effects (MICE) の統合、ヒトへの外挿、解析的評価

個体差、個体内変動、集団の検証 (性差、人種差、病因歴、合併症)

given, randomなパラメータ設定。実験では再現あるいは実施が困難な実験条件での検証も可能

創薬では極めて重要！そもそも実際臨床で問題となってくる薬物誘発性不整脈はまれにしかおこらない現象（必ず起こるなら上市されないという意味で）。悪い条件の重なり。

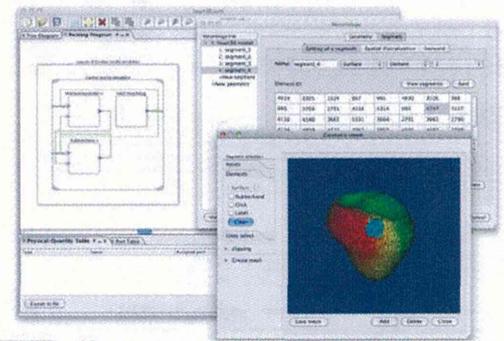
⇒考え方によっては、有効であればヒト心筋・心臓を忠実に再現した精緻なモデルである必要はない

実験データの理解 (メカニズムの可視化)

データを体系化すると理解に繋がる⇒実験データに意味を与える  
モデリング&シミュレーションは理論に基づきデータに意味を与える  
パラメーターのダイナミクスを可視化することが出来る  
視覚的に示せるので説得力がでる

アクセシ系としても使えるし、現象の説明のためにも使える

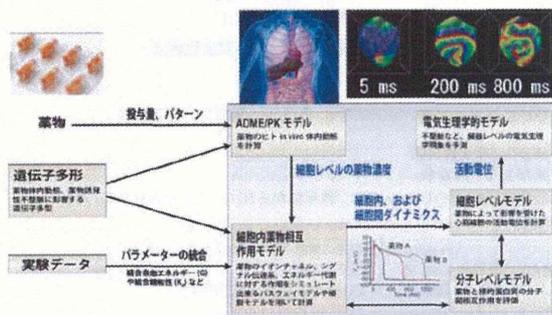
パブリックオープンなプラットフォーム、モデリング&シミュレーションソフトウェア、モデルデータベース



PiMML PhysioDesigner

CMST 北野玄明, 長井義之, 藤原 新学領域研究「多臓器生体機能学」からの成果

薬物の心臓に対する作用をシミュレート



現象の解析、理解、データと理論に基づいた説明を行える  
創薬の効率化 (期間、費用)

世界の動向

シミュレーションの医学・創薬への応用-基礎研究レベル①

'90-2000年代からの変化

1.心臓機能解析・統合的不整脈研究プロジェクトの設立

学際的な発展

2.国際学会と成果発表

ICSBほか多数、論文の増加

3.ハード面 (コンピューター性能) の向上

以前：ハード性能の未成熟のため計算の大規模化が困難であり、モデルは極端な抽象化されていたため、実験的に得られるin vitro、in vivoデータの統合が困難

\*薬物 (分子レベル) と心電図 (個体レベル) の関係などの解析的評価が困難

⇒大規模複雑なモデル (例えば多臓器モデル) の計算が実的に

4.ソフト面 (生体システム理論・解析アルゴリズム) の向上

現象をどのように数値モデル化し計算するのか

ロバストネス、ネットワーク進化、システム遷移

5.システムズバイオロジーの基盤技術

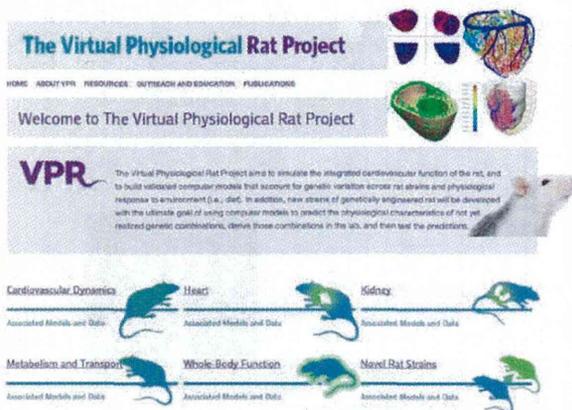
測定技術

システムズバイオロジー統一プラットフォーム (研究環境の標準化)、各種解析ツール、モデルデータベース

世界の動向  
シミュレーションの医学・創薬への応用-基礎研究レベル①

6.人材育成

システムズバイオロジーの医療・医療への応用を視野に入れた基礎研究が、米・EU、中国、韓国、シンガポール、インド、オーストラリアなどで非常に活発化している。以前は様々な学部で研究・教育⇒ハーバード大学 (Department of Systems Biology, HMS) が初めてシステムズバイオロジー学部を設立して以来Columbia Univ., Stanford Univ., Princeton Univ., UCSF...世界中の多くの大学で学部やセンターの設立が続いている。



世界の動向  
シミュレーションの医学・創薬への応用③  
国家レベルの取り組み②

プロジェクト研究:

- 特定領域研究、新学術領域研究: いくつかのシステムズバイオロジー研究 (文科省)
  - 多階層生体機能学2010-2014年度 (代表倉智嘉久) Multi-scale Multi Physics Modeling Platform、解析ツール、心臓不整脈研究
  - リーディングプロジェクト2003-2007年度 (文科省)
    - 機能シミュレーションプロジェクト (統括マネージャー: 安西 祐一郎、慶応大学末松、京都大学野間、大阪大学倉智、神戸大学清野ら)
    - 『最先端・高性能汎用スーパーコンピュータの開発利用』プロジェクト2006-2012年度
    - 世界最先端・最高性能の「次世代スーパーコンピュータ・京」の開発・整備
    - 次世代スーパーコンピュータを最大限活用するためのソフトウェア (グランドチャレンジアプリケーション)
    - 次世代生命体統合シミュレータ開発
- 最先端研究開発支援プログラム (FIRSTプログラム) 2009-2013年度 (内閣府)
  - 医療工学領域 (中心研究者: 永井良三) 心臓シミュレーター-UT-Heart (東京大学)
- 研究教育機関の設置:
  - 大阪大学 臨床工学融合研究教育センター-2004年、東北大学 大学院工学研究科 2008年
  - 社会人教育 一般社団法人臨床医情報学コンソーシアム関西 など

世界の動向  
シミュレーションの医学・創薬への応用②  
国家レベルの取り組み①

多階層の生体機能シミュレーション: 欧米特にチカラを入れている  
高い科学技術 ⇒ 国際的なイニシアティブをとれる  
産業の効率化 ⇒ 国際的な競争力を高める  
今後の最重要課題として、産官学の連携で強力に推進

米国: 2000年頃から、系統的なプロジェクト・グラント、学科、センターの設立が続く  
NIGMS NHLBI (心臓研究)、Institute for Systems Biology  
Multi-scale Modelingコンソーシアム (心臓血管関係もプロジェクト)  
-Virtual Physiological Rat ミシガン大など 心血管疾患研究のための仮想動物モデル

FDAにシステムズバイオロジー、特に心臓毒性学のシステムズバイオロジー研究者が異動、活発なWSの開催

世界の動向  
シミュレーションの医学・創薬への応用②  
国家レベルの取り組み①

英: システムズバイオロジー研究所  
合成生物学とシステムズバイオロジー

EU: FP (Framework Programme) 6/FP7 2007-2013/FP8(HORIZON2020)

2014-2020 in systems biology  
今後の医薬開発の共通基盤強化、安全性・有効性の向上、人材育成  
Virtual Physiological Human (VPH) Institute



中国、韓国、シンガポール、ニュージーランド、オーストラリアなどでもシステムズバイオロジー、生体機能シミュレーション研究を積極的に推進

世界の動向  
シミュレーションの医学・創薬への応用④  
産業界への導入①

in silico探索 vs in silico安全性評価

医薬会社、ベンチャー企業

in silico探索

標的の探索、薬物の構造最適化、システム病態学、複合投薬

in silico安全性評価

まだまだこれから

心毒性評価 (QT、non-QT) 数年前からFDAなどで盛んにWSが行われている

in silico安全性評価の課題: 研究の未成熟?、人材不足  
薬物の安全性評価 (毒性学): 大型実験動物などを用いた高度な動物実験技術などが必要、wet研究者が見よう見まねでやっているという状況。専門家の不足。  
そういった知識と技術を持った人材がいなかったという背景 (上層部の理解不足)  
専門家だけでなくとも簡便な評価が妥当に行えるようになるまで科学技術が進むこともありえる

シミュレーションの医薬・医療への応用への課題と対策

期待	
万能性 (なんでもできるのではない)	<i>in vitro</i> 実験 (薬物のイオンチャネル・トランスポーターへの作用の解析、AP測定)、 <i>in vivo</i> 実験 (動物実験、ヒトでのQT試験) に取って代わるものではない <i>in vitro</i> 実験、 <i>in vivo</i> 実験を補うもの
信頼性 (計算結果は正しい)	基礎データがまだ不足している (特に臨床データ、ヒトデータ)
基礎・臨床研究の発展 (不整脈発生機転の理解は十分ではない) iPS細胞などの新技術が解決	
実現可能性 (いまずくにも産業応用可能)	科学技術レベル、人材、統一化 人材育成は教育機関である大学の責務 産官の協力が必須

医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題  
- まとめるに向けて、他の検討項目との相互作用①

**in silicoのアプローチ**

*in vitro*、*in vivo* (ヒト、実験動物) のアプローチを補うもの。様々なデータを統合し、明快な説明を与える。

新規科学技術 (iPS細胞などの幹細胞技術、オミックス) との相性も良い

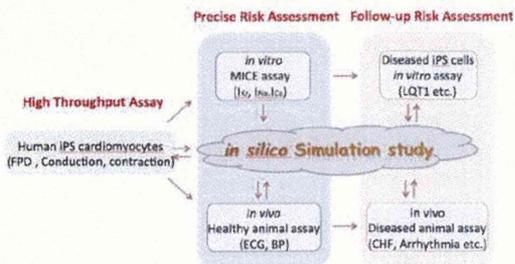
**特にヒトiPS心筋の利用を逸早く可能にする**  
ヒトiPS心筋の電気生理学的特性、薬物の応答性の解析を助ける

iPS細胞由来心筋がヒトの心筋細胞と異なる電気生理学的特性であっても、薬物によって起こる変化から数理モデルを解くことで解析的にその作用を予測することが可能である

⇒ヒト心臓への効果を適切に予測できる  
⇒病態モデルを用いることでリスクを検出しやすくするという観点も

医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題  
- まとめるに向けて、将来的の創薬 (安全性薬理学) の展望

**Proposed Comprehensive Strategy for Cardiac Safety Testing**



インシリコの医薬品安全性評価が創薬プロセスの中で果たす役割

現在行われている薬物の心臓安全性試験

	Discovery	Lead optimization	Candidate selection	GLP	Phase 1	Phase 2	Phase 3	Launch
	S7b guideline			E14 guideline				
	<i>in vitro</i>		<i>ex vivo</i>	<i>in vivo</i>	<i>in vivo</i>			
Item	hERG	APD/ECG	ECG	ECG				
Species	human	GP rabbit dog	dog monkey	Healthy volunteers		patients		
Issue	False pos. No arrhythmia		Species difference		Individual difference			

S7b, E14ではダメ: 安全で有効な薬物をdiscardしてる  
現在の科学技術レベルにあったガイドラインになるべき

医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題  
- まとめるに向けて、将来的の創薬 (安全性薬理学) の展望

*in silico*のアプローチが創薬プロセスに今以上に導入されれば

**「創薬プロセスのパラダイム・シフト」**

心臓安全性評価におけるSpecific aims:  
QT延長評価/HERG試験の意義の再検討  
創薬の経済性・効率化の向上  
医療領域での*In silico*戦略の拡大

医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題  
- まとめるに向けて、心臓安全性評価に関わるICHガイドライン



Revolution dawning in cardiotoxicity testing

Nat Rev Drug Discov 12, 565, 2013, News & Analysis

ICH E14の廃止、S7bの見直しに関する記事

iPS細胞のような幹細胞技術と数理計算モデリング&シミュレーションが心臓安全性評価に入ってくる未来を予想

医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における現状と課題  
-まとめに向けて-日本の貢献

#### アカデミア：大学・研究機関

iPS細胞（その他の幹細胞、細胞工学）、生体機能シミュレーション  
→この分野の世界トップの科学技術レベルにある

特にiPS細胞は紛れもない日本初の科学技術、その利用を加速するためにインシリコ・生体機能シミュレーション技術（組織工学）を利用することは有効

この分野の基礎研究のトランスレーションを加速し産業応用に繋げることは日本の責務。それが実現されれば、よりよい医薬品をより早く患者のもとへ届けることができ、また諸外国にとって大きなイニシアティブをとれる。

#### 謝辞

##### 霧島会議*in silico* WGメンバー

東京医科歯科大学	黒川洵子	東京大学大学院	久田俊明
滋賀医科大学	芦原貴司		杉浦清了
千葉大学大学院	中谷晴昭		岡田純一
中外製薬株式会社	田保充康	エーザイ株式会社	吉永貴志

##### 研究室メンバー

大阪大学大学院 倉智嘉久  
倉智研究室のメンバー

##### 安全性薬理研究会

厚労科研費 H24-医薬-指定-030（代表：関野 祐子）  
文科科研費 新学術領域研究「多階層生体機能学」22136002（代表：倉智嘉久）  
基礎研究24590319（代表：古谷和香）

心臓安全性評価にかかわるICHガイドラインを取り巻く最新情報

## 医薬品のインシリコ催不整脈リスク評価における 現状と課題

インシリコにおける医薬品催不整脈リスク評価の実現性に関して議論するために、現在の心臓機能シミュレーション技術の現状と課題について紹介した。この分野の世界的な動向を概説し、さらに我々が行っている研究プロジェクトで得られた成果を紹介した。また、医薬品開発におけるインシリコによる新規試験法の位置付けや実現に向けた今後の課題に関して、研究教育機関としてのアカデミアの立場から考察した。

医薬品安全性のインシリコ試験は、得られた実験データの意味を従来にない明快さで説明することを可能にするものであり、非臨床試験や臨床試験に取って代わるものではない。同時に検討されているヒトiPS細胞の創製プロセスへの応用などと併せて考えれば、医薬品のヒトへの安全性評価法のブレークスルーとなるであろう。

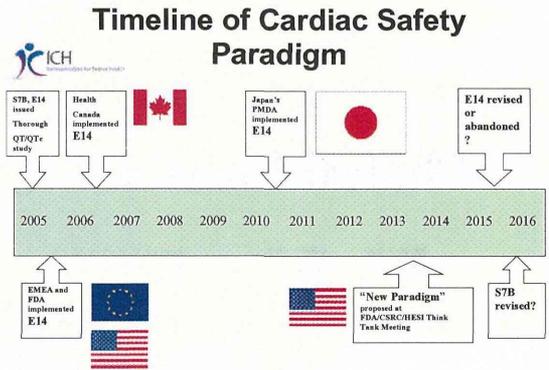
## Clinical Pharmacology in Integrated Cardiac Safety

深瀬 広幸 一般財団法人 メディポリス医学研究財団 シーピーシー治験病院

2014年1月11日(土)～1月12日に開催された第1回心臓安全性に関するシンクタンクミーティング 2014 in 霧島(霧島会議)のClinical Pharmacology Working Groupのディスカッションでは、FDAが提唱するNew Paradigmを見据え、臨床試験、特に初期臨床試験における心臓安全性評価はどうあるべきかが論点となった。いかに前臨床試験の予測性が高まろうとも100%の予測性はあり得ず、最終的には臨床試験における綿密な安全性評価が必要であることは議論の余地はない。コンピューターシミュレーション、iPS細胞といった新技術が前臨床試験の予測性を飛躍的に高めることが期待される中、今後の初期臨床試験における安全性評価が果たすべき役割とは？初期臨床試験において具体的にどのような安全性評価が必要か？急速に進化をとげつつある、コンピューターシミュレーションを使った安全性評価、幹細胞、特にiPS細胞を使った安全性薬理試験が近い将来、心臓安全性評価の方法に革新をもたらすのは間違いない。あたらしい時代のIntegrated Cardiac Safetyにおける初期臨床試験はどうあるべきか？批判は承知の上で私見を述べてみたい。

# The Current Trends and Issues on ICH E14 & Cardiac Safety in Japan

Hiroyuki Fukase, MD, PhD  
 CPC Clinical Trial Hospital  
 Medipolis Medical Research Institute  
 Date & time: 20 March 2014, 11:45-12:15  
 Venue: meeting room #208, GSK Japan

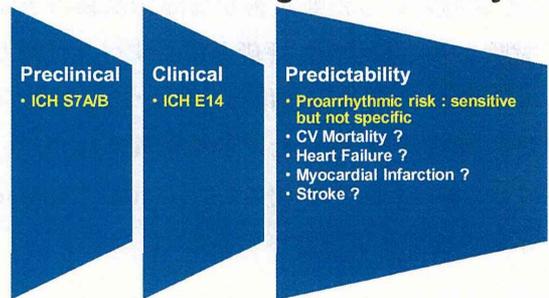


## Integrated Cardiac Safety

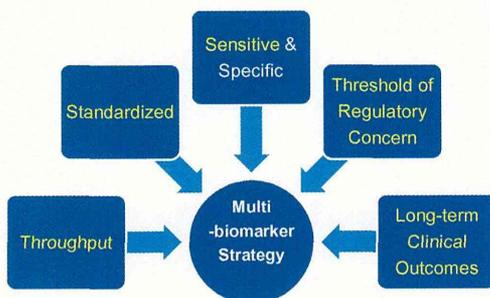


ICH S7B, 2005

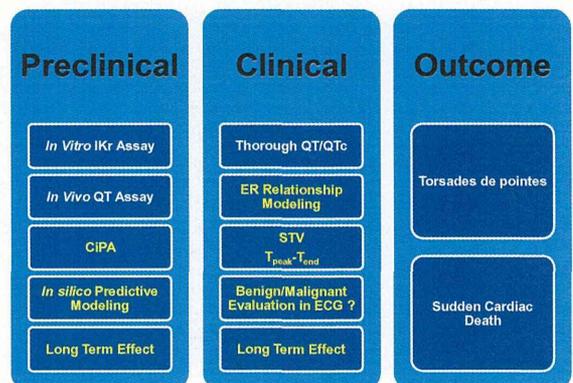
## Predictability of Preclinical and Clinical Testing on CV Safety



## Ideal Biomarkers



## Integrated Cardiac Safety on Proarrhythmia



## 1st Think tank Meeting on Cardiac safety 2014 in Kirishima <Kirishima Meeting>

- **Clinical Pharmacology Working Group Members:**
- Hiroyuki Fukase, MD, PhD, CPC Clinical Trial Hospital
- Maki Ito, RN, MD, PhD, MSD K.K
- Kaori Shinagawa, MD, PhD, PMDA
- Yuji Kumagai, MD, PhD, Kitasato University
- Koki Nakamura, MD, PhD, Takeda Pharmaceutical Company Limited
- Kinue Nishioka, PhD, PMDA
- Philip T. Sager, MD, FACC, FAHA, Cardiac Safety Research Consortium and Stanford University

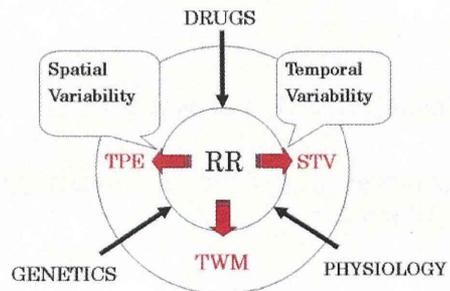
## Biomarkers of Dispersion of Ventricular Repolarization

- It is well known **spatial and temporal dispersion** of ventricular repolarization are strongly related to ventricular **proarrhythmia risk**

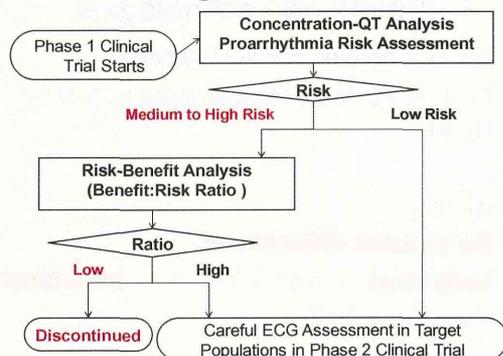
## Biomarker of Dispersion of Ventricular Repolarization

- The **short-term variability of repolarization (STV)**
- The **beat-to-beat** changes in repolarization (**monophasic action potential** in preclinical or **QT** in clinical) duration are assessed

## New Biomarkers to Detect Drug-Induced Proarrhythmia



## Possible Algorithm Post-E14



What is the Significance of Early Phase Assessment in Integrated Cardiac Safety

- **Perfect prediction** about clinical trial results from preclinical data is **not possible**
- **Unanticipated findings** might be observed
- **Gatekeeper** of human studies

## Proarrhythmia Risk Assessment

Step 1:  
quantification of **proarrhythmia risk**

Step 2:  
**risk benefit** analysis

## Proarrhythmia Risk Assessment

- Step 1: quantification of proarrhythmia risk

$$KI = f(S, T)$$

- $KI$  : Proarrhythmia Risk (Kirishima Index)
- $S$  : Spatial Dispersion of Repolarization
- $T$  : Temporal Dispersion of Repolarization

## Proarrhythmia Risk Assessment

$$KI = f(S, T)$$

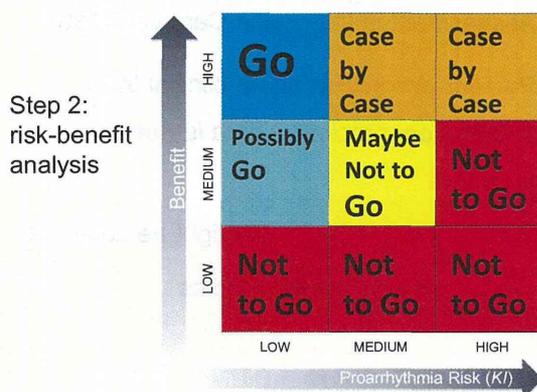
- Biomarkers of  $S$  : T peak to end
- Biomarkers of  $T$  : Short term variability of repolarization

## Proarrhythmia Risk Assessment

$$KI = f(S, T)$$

- $KI_{MAD} / KI_{SAD} > 1$  : trafficking disturbances

Matrix Chart for Decision Making Based on Proarrhythmia Risk Benefit Analysis



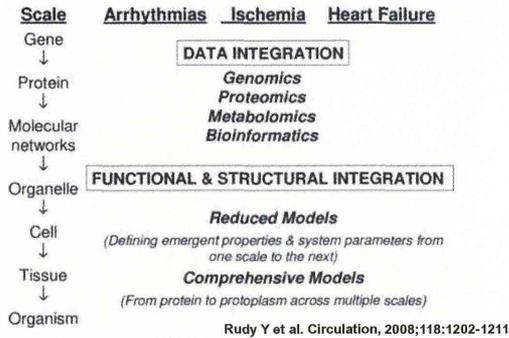
## Virtual Clinical Trials Using Emerging Technologies

- iPS cell derived cardiomyocytes
- Multi-scale heart simulator such as UT-Heart

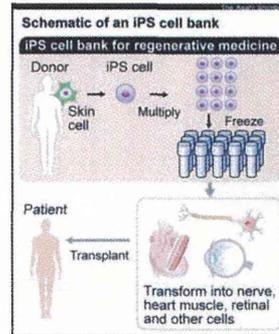
• Advantages:

- **No species differences**
- **Individual**-derived iPS cells or **individual**-specific simulator

## Virtual Clinical Trials Using Emerging Technologies



## iPS Cell Bank



[http://ajw.asahi.com/article/behind\\_news/social\\_affairs/AJ201112310003](http://ajw.asahi.com/article/behind_news/social_affairs/AJ201112310003)

## iPS Cell Bank

Glycogen storage disease, Type 1b 糖原貯蔵1b型	1	HP100064
Glycogen storage disease, type II (Pompe's disease) ポンペ病	1	HP100110
Inclusion body myositis 包涵体筋炎	1	HP100161
iPS-like cells derived from colorectal adenocarcinoma がん細胞(大腸)から樹立したiPS細胞誘導細胞株	1	HP100112
Long QT Syndrome and Brugada Syndrome, P231b/33 長QT症候群/右室性心室頻拍誘発型(P231b/33)	1	HP100210
Metachromatic leukodystrophy (MLD) 異色性白質ジストロフィー	1	HP100205
Mitochondrial encephalomyopathy ミトコンドリア病	1	HP100062
Muscular disease 筋疾患	2	HP100211
Muscular dystrophy, Becker type ベッカー型筋ジストロフィー	1	HP100220
	1	HP100162
	2	HP100163

RIKEN  
BIORESOURCE  
CENTER CELL  
BANK  
([http://www.brc.riken.jp/lab/cell/ipsa/ipsa\\_diseaselist.shtml](http://www.brc.riken.jp/lab/cell/ipsa/ipsa_diseaselist.shtml))

## Virtual Clinical Trials Using Emerging Technologies

- Real population
- Virtual population reconstructed from **individual-derived iPS cells**
- Virtual population reconstructed from **individual-specific heart simulator**
- it will enable us to derive predictive **modeling and simulations**, and to **develop and test new therapies**

## Virtual Clinical Trials Using Emerging Technologies

- It may be possible to accurately **predict ECG changes** induced by the modulations in each ion channel activity in virtual clinical trials
- Can virtual clinical trials **substitute for real clinical trials?**

## Can Virtual Clinical Trials Substitute for Real Clinical Trials?

- Complete substitution
- Partial substitution
- To **optimize the design** of real trials

Thank you very much!



I appreciate all participants in the Kirishima Meeting for their contribution to cardiac safety evaluation.

## hiPSC-ニューロンで神経特異的有害反応は予測可能か

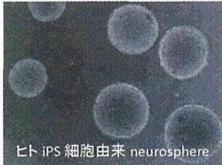
佐藤 薫 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部

ヒト iPS 細胞 (human induced pluripotent stem cells: hiPSC) から分化誘導した神経細胞 (hiPSC-ニューロン) は非臨床試験においてヒトニューロンの使用を可能とすることから、ヒト神経特異的な有害反応の予測性向上に期待が寄せられている。hiPSC-ニューロンによる評価系からより多くの有意義な情報を得るためには、神経特異的有害反応を予測できる *in vitro* 実験系の開発も同時に進めなければならない。

中枢神経系は神経層・神経核といった特定の機能を担った神経集団によって成り立っており、神経層・神経核は興奮性神経細胞、抑制性神経細胞からなる領域特異的な神経回路から成り立っており、さらに、それぞれの神経細胞どうしはシナプスという構造で接合している。シナプスは、特定条件で興奮性神経伝達物質グルタミン酸の放出確率が上昇するといった、伝達効率の変化=シナプス可塑性を生み出すマシナリーがあり、記憶や学習といった高次中枢神経機能の基盤となっている。その一方で、シナプス可塑性に関わる NMDA 型グルタミン酸受容体が、過剰なグルタミン酸刺激によって引き起こされる興奮毒性の原因となっている。これは神経特異的な毒性メカニズムであり、実はこの興奮毒性が非常に多くの神経障害共通のメカニズムとなっている。従って、シナプス機能、神経回路機能を再現した hiPSC-ニューロンによる *in vitro* 試験系を実現することによって、神経特異的有害反応、さらには高次中枢神経機能に対する有害反応を初期的・高効率にとらえられる可能性がある。

国立医薬品食品衛生研究所薬理部はこのような背景をふまえ、アカデミア、hiPSC メーカー、製薬企業の協力を得、国内外で入手可能な hiPSC-ニューロンが当研究所に集まる体制を整備した。また、終末分化 (terminal differentiation)、神経回路形成に至るどのステージまで機能的分化がすすむか、という点について共通のパラメーターによって比較可能な標準化プロトコルを確立した。このプロトコルに従い、我々は種々の製法によって調整された hiPSC-ニューロンについて機能的分化到達度データを蓄積している。本シンポジウムでは、これらのデータの一部を紹介し、hiPSC ニューロンでの神経特異的有害反応の予測可能性について考察する。また、現状での問題点について整理・確認し、今後目指すべき方向性についても議論する。

# hiPSC-ニューロンで 神経特異的有害反応は予測可能か



ヒト iPS 細胞由来 neurosphere

国立医薬品食品衛生研究所薬理部第一室  
佐藤 薫

# hiPSC-ニューロンへの期待

★これまでほとんど使用することができなかったヒト神経細胞標本の創薬応用が可能になる。ヒト予測性向上への期待。

★*In vitro* 試験系としてヒト iPS 細胞早期実用への期待。

→ *in vitro* における神経機能の再現

# 中枢神経系の階層構造

脳

神経層、神経核

局所神経回路

領域特異的神経回路  
興奮性神経と抑制性神経のバランスが異なる

シナプス  
興奮性伝達物質: グルタミン酸  
抑制性伝達物質: GABA  
神経伝達調節物質

神経細胞 (ニューロン)

# 神経細胞機能 = シナプス機能

Initial State

Repeated Stimulation

1 week Later

Long Term Potentiation (LTP)

# 神経細胞機能 = シナプス機能

Initial State

Repeated Stimulation

1 week Later

Long Term Potentiation (LTP)

# 神経細胞機能 = シナプス機能

Presynaptic terminal

Postsynaptic terminal

NMDAR

Potentiated

Recently Silenced

Active

Silent

LTD

Emond et al., *J Physiol* 588 (2010) 1929-

シナプス機能 = シナプス可塑性 (伝達効率の可塑的变化)

シナプス機能を担うタンパク質分子群